

Facteur VIII viralement sécurisé à faible teneur en multimères supérieurs

5 La présente invention se rapporte à une composition de Facteur VIII d'origine plasmatique sécurisée viralement, obtenue après filtration nanométrique, comprenant du Facteur von Willebrand (FvW) à un taux inférieur ou égal à 15 % de décamères et multimères supérieurs. De telles compositions présentent un facteur de réduction du titre des virus supérieur à 4 log et sont donc adaptées pour le traitement de l'hémophilie.

10

Le disponibilité en facteur de coagulation est en depuis un certain temps un problème de santé public. Pour répondre à la demande, les industriels ont développés des techniques de production de facteurs recombinants dont on pensait qu'elles pourraient à terme supplanter la fabrication à partir de pool de plasma. Toutefois, les quantités produites
15 apparaissent encore insatisfaisante et les investissements pour le développement de ces produits sont conséquents. Par ailleurs, une réaction immunitaire contre ces facteurs recombinants est observée chez les patients, ce qui implique l'administration de dose élevée pour aboutir à l'effet thérapeutique souhaité. Enfin, certains patients ne tolèrent pas les facteurs recombinants.

20

Ainsi, la production de facteurs de coagulation d'origine plasmatique reste un enjeu important.

Le facteur VIII ou facteur anti-hémophilique est une protéine plasmatique présente en
25 faible concentration dans le plasma humain. Ce facteur catalyse les réactions biochimiques de la coagulation du sang par augmentation de la vitesse de réaction pour aboutir à la formation d'un caillot de fibrine hémostatique obtenu à partir du fibrinogène soluble soumis à l'action de la thrombine en présence de calcium. Le facteur VIII intervient dans la cascade de réactions aboutissant à la thrombinoformation qui est
30 l'activité enzymatique responsable de la transformation du fibrinogène en fibrine. Le point central de la coagulation repose donc sur la présence et l'activation du FVIII.

Les individus hémophiles, déficients pour le FVIII, sont traités par injection de ces FVIII purifiés obtenus soit par recombinaison génétique, soit par extraction du plasma humain.

5

Dans ce dernier cas, des procédés d'inactivation et/ou d'élimination de virus doivent être appliqués afin de protéger les hémophiles soignés par ces concentrés de toute infection due à des virus transmissibles par le sang ou ses dérivés : virus des hépatites A, B, C, VIH ou parovirus B19....

10

Ainsi, un des problèmes essentiels liés à la préparation du facteur VIII à partir du plasma, réside dans la nécessité d'inactiver et/ou d'éliminer des virus originellement contenus dans le sang au minimum selon les normes réglementaires tout en conservant un rendement optimum en facteur à l'issue du procédé. De nombreuses techniques d'inactivation virale ont ainsi été développées telles que le chauffage à sec, la
15 pasteurisation, le traitement solvant-détergent. L'ensemble de ces techniques est relativement efficace vis-à-vis des virus enveloppés mais l'inactivation ou l'élimination des virus nus, notamment des petits virus tels que le parvovirus B19 ou le virus de l'hépatite A, constitue un obstacle majeur.

20

Des technologies plus récentes utilisent les capacités de rétention virale de membranes de faible taille de pores. Ces technologies présentent effectivement une efficacité notable vis-à-vis de virus de petite taille tels que les parvovirus B19 ou le virus de l'hépatite A et peuvent être appliquées à des protéines de faible poids moléculaire.
25 Cependant, les seuils de coupure utilisés, qui sont inférieurs à 900 kD, ne permettent pas d'envisager la filtration de protéines ou complexes protéiques de haut poids moléculaire comme le facteur VIII sans perte majeure de rendement.

Le facteur VIII se présente comme un édifice protéique complexe d'une protéine active,
30 le FVIII, transportée par une protéine de haut-poids moléculaire à laquelle le FVIII est lié par des liaisons ioniques et hydrophobes. La protéine de haut poids moléculaire est le

Facteur von Willebrand (FvW) constitué d'un ensemble de monomères élémentaires ayant un degré de multimérisation variable conduisant à des structures assemblées en tétramère jusqu'à des édifices comportant plus de seize monomères.

- 5 Selon les méthodes de purification de FVIII mises en œuvre, le produit final peut contenir du FvW à divers degré de multimérisation (METZNER, HERMENTIN et al. – Haemophilia (1998), 4 (Suppl. 3), 25-32).

Or, dans notre brevet FR 97 15888, nous avons décrit qu'il est possible de filtrer le
10 FVIII plasmatique, malgré sa taille, tout en retenant des virus de taille supérieure ou égale à 20 nm, sur des filtres de porosité d'environ 15 nm avec une concentration en ions chaotropiques d'au moins 0,2 M.

Plus récemment, la recherche conduite pour perfectionner ce procédé et choisir
15 différentes natures de matériaux filtrants a fait apparaître que la taille des pores du filtre et les limites techniques peuvent varier selon les fabricants. Ainsi, il est apparu nécessaire de trouver un test rapide et reproductible permettant de vérifier que le produit final répond bien aux exigences sanitaires.

20 L'assurance de l'élimination des virus par le moyen de filtres est garantie par des méthodes de validation effectuées sur le filtre après passage de solution de FVIII. Ces méthodes peuvent être par exemple la mesure de diffusion gazeuse à travers la membrane ou, dans le cas de filtres en curophane, la mesure du passage de particules d'or colloïdal calibrées à travers le filtre.

25

Mais aucune méthode ne se réfère au produit filtré lui-même pour déterminer qu'il a subi une filtration capable de retenir les virus dans des proportions fixées.

Une analyse plus fine de la composition des multimères du FVIII avant et après
30 filtration a été réalisée, en même temps qu'une mesure de la réduction du titre viral apportée par la filtration de facteur VIII.

Nous avons trouvé de façon surprenante et inattendue que l'appauvrissement en multimères de haut poids moléculaire de FvW mesurés dans les filtrats de FVIII est corrélé avec l'efficacité de la rétention de virus par le filtre. En outre, nous avons
5 découvert qu'il est possible de filtrer à environ 20 nm grâce à la vérification de la teneur en multimères. Nous proposons donc un nouveau moyen permettant la production à haut rendement et la caractérisation du FVIII qui répondent aux exigences d'élimination de virus par le filtre nanométrique.

10 Description

Ainsi, dans un premier aspect, la présente invention porte sur une composition pharmaceutique de facteur VIII d'origine plasmatique dont la sécurité virale correspond à un facteur de réduction supérieur à 4 log, ce qui répond aux exigences de sécurité en
15 matière d'élimination de virus par filtration. La composition de FVIII ainsi sécurisée est caractérisée par un faible taux résiduel de FvW de haute multimérisation.

Plus spécifiquement, l'invention concerne une composition de Facteur VIII d'origine plasmatique, obtenue après filtration à travers un filtre nanométrique d'ouverture
20 nominale de pores de 15 ± 2 nm à 23 ± 2 nm, caractérisée en ce qu'elle comprend du Facteur von Willebrand (FvW) à un taux inférieur ou égal à 15 % de décamères et multimères supérieurs. Dans cette composition, le facteur de réduction du titre d'un virus d'une taille de 27 ± 3 nm est supérieur ou égale à 4 log, de préférence 5 log, avantageusement 6 log comparé à la solution avant filtration.

25

Cette composition peut se trouver sous la forme d'une solution injectable par voie intraveineuse, intramusculaire ou sous-cutanée par exemple.

L'invention concerne également la corrélation entre la présence de 15 % au plus de
30 décamères et multimères supérieurs de FvW avec un facteur de réduction du titre viral d'au moins 4 log.

Ainsi, dans un deuxième aspect, l'invention porte sur un procédé pour tester la sécurité virale d'une composition de Facteur VIII d'origine plasmatique, ledit procédé comprenant une étape consistant en la détermination du taux résiduel de FvW de haute multimérisation. En particulier, on considérera qu'une composition est sécurisée viralement dans le cas où l'on détecte moins de 15% de décimères et multimères supérieurs de FvW.

Dans un aspect complémentaire, l'invention porte sur un kit de test permettant de mettre en œuvre le procédé mentionné ci-dessus comprenant les réactifs nécessaires pour le dosage des multimères de FvW de degré de multimérisation supérieur ou égal à 10.

L'invention porte également sur un procédé de préparation d'une solution de facteur VIII sécurisée viralement comprenant une étape de filtration à travers des filtres nanométriques d'ouverture nominale de pores comprise entre 15 ± 2 nm et 23 ± 2 nm, soit un intervalle de 13 nm à 25 nm, une étape de dosage du Facteur von Willebrand (FvW) de décimères et multimères supérieurs. L'étape de dosage consiste de préférence en une vérification que le taux de décimères et multimères supérieurs de FvW est inférieur ou égal à 15 %. Par exemple, un échantillon est soumis à une électrophorèse sur gel permettant de séparer les multimères par leur taille. Les multimères sont visualisés en utilisant un anticorps anti-FvW marqué au I-125 ou d'autres marqueurs. L'intensité lumineuse de chaque bande correspondant chacune à un multimère de FvW est déterminée et le taux limite en multimère supérieur exposé ici est calculé. On peut également utiliser un anti-FvW de lapin (Darko corp, USA) et un second anticorps anti-Ig de lapin conjugué avec la horseradish peroxidase (HRP) et visualiser les multimères au moyen d'un kit chimi-luminescent disponible dans le commerce (ECL detection kit, Amersham Pharmacia) pour détecter HRP sur western blots.

On obtient à l'issue de ce procédé des solutions de facteur VIII dont le facteur de réduction du titre d'un virus d'une taille de 27 ± 3 nm est supérieur ou égal à 4 log, de préférence 5 log, avantageusement 6 log. La solution de facteur VIII avant filtration

comprend de manière optimale un ion chaotropique, par exemple CaCl_2 , à une concentration supérieure ou égale à 0.2 M, par exemple 0.25 ou 0.35 M.

L'invention vise également l'utilisation d'une composition mentionnée ci-dessus pour
5 préparer un médicament destiné au traitement des maladies liées à la coagulation sanguine, notamment l'hémophilie.

**Exemple 1: Procédé de préparation de FVIII sécurisé par filtration sur filtre
nanométrique de 15 nm et vérification de la teneur en FvW de multimérisation >
10 10.**

Les virus testés sont des bactériophages Phi X 174, virus non enveloppés, de diamètre 27 ± 3 nm.

La culture des virus et leur titrage sont effectués conformément à la norme AFNOR :
15 NF T 72-181.

Le FVIII est recueilli à la sortie de la colonne Toyopearl DEAE et amené à pH 6 ; la concentration en CaCl_2 est portée à 0.35 M. La température de la solution et du filtre est thermostatée à 35 °C et la pression de filtration est ajustée à moins de 100 mbar.

Dans ces conditions, le débit est de 1.2 l/h par m^2 .
20

Le rendement en FVIII : C est d'environ 70 % par rapport au FVIII : C avant filtration.
Le tableau I donne la répartition des multimères de FvW.

	Facteur vW	Avant filtre	Après filtre
25	<pentamères	41 %	53 %
	5 à 9 mères	34 %	34 %
	10 à 15 mères	15 %	9 %
	16 mères et +	11 %	4 %

30 Tableau I : Répartition des multimères (Planova® 15N)

On constate une diminution significative des décamères/pentadécamères : la répartition passe de 15 % à 9 %.

Pour les hexadécamères et plus, la réduction est encore plus importante : elle passe de 11 % à 4 %.

Le titrage des virus PhiX174 démontre une réduction de 6 log à la filtration.

10

Exemple 2: Procédé de préparation de FVIII sécurisé par filtration sur filtre nanométrique de 20 nm et vérification de la teneur en FvW de multimérisation > 10.

15 La filtration a été effectuée sur un filtre de même nature (cuprophane, Planova) mais de porosité différente (20 à 22 nm), une solution de FVIII obtenue comme dans l'exemple 1 est ajustée à pH 6 et additionnée de CaCl₂ à 0.45 M. La pression est réglée à 17 mbar et l'ensemble solution et filtre est thermostaté à 35 °C.

Dans ces conditions, le débit est de 1.2 l/h par m² et le rendement de FVIII est de 80 % par rapport au FVIII initial.

20

Le tableau II donne la composition des multimères de FvW.

	Facteur vW	Avant filtre	Après filtre
	< pentamères	47 %	56 %
25	5 à 9 mères	32 %	34 %
	10 à 15 mères	13 %	10 %
	16 mères et +	11 %	2 %

Tableau II : Répartition des multimères de FvW (Planova P21).

30 Les décamères-pentadécamères sont significativement réduits et passent de 13 % à 10 %.

Les hexadécamères sont drastiquement réduits de 11 % à 2 %.

Le facteur de réduction du titre viral est de 4.3 log.

Exemple 3 : Filtration à haute pression et à travers une porosité d'environ 20 nm

5

Dans le but d'examiner la performance du filtre Planova P21 dans des conditions de pression plus élevées et à température ambiante, la solution de FVIII est ajustée à pH 6 et la concentration en CaCl₂ est amenée à 0.35 M. La température est de 22 °C et la pression est ajustée à 400 mbar.

10

Dans ces conditions, la vitesse de filtration atteint 5l/h par m² et le rendement en Facteur VIII est de 64 % par rapport au produit de départ.

Le tableau III donne la composition en multimères de FvW.

15	Multimères FvW	Avant filtre	Après filtre
	< 5 mères	44 %	50 %
	5 à 9 mères	34 %	35 %
	10 à 15 mères	13 %	8 %
	16 mères et +	10 %	7 %

20

Tableau III : Répartition des multimères de FvW (Planova P21 à pression élevée)

Les décimères-pentadécimères sont réduits de 13 % à 8 %.

Les hexadécimères et plus sont réduits de 10% à 7 %.

25

Le facteur de réduction du titre viral est de 6.1 log.

Exemple 4: test sur filtre de type polysulfone 20 nm à haute pression.

30 Dans le but de valider un autre type de filtre, un essai de filtration de FVIII a été effectué sur un filtre type polysulfone DV20 (Pall). Ce type de filtre admet des pressions plus élevées que les filtres cuprophane. Ainsi l'exemple n° 3 a été mis en

place pour évaluer le comportement du filtre cuprophane à pression plus élevée, de façon à recueillir des observations dans des conditions approchantes.

La solution de FVIII est amenée à pH6 en présence de CaCl₂ à 0.35 M. La solution et le
5 filtre sont thermostatés à 35°C. La pression nécessaire à la mise en œuvre du filtre est de 950 mbar. Dans ces conditions, le débit moyen s'établit à 7l/h par m².

Le rendement en Facteur VIII est de 70 % par rapport au FVIII initial.

Le tableau IV donne la composition en multimères de FvW.

10

Multimères FvW	Avant filtre	Après filtre
< 5 mères	35 %	53 %
5 à 9 mères	38 %	30 %
10 à 15 mères	27 %	12 %
15 16 mères et +	10 %	6 %

Tableau IV : Répartition des multimères de FvW (DV20 Pall, polysulfone)

Les hexadécamères subissent une réduction drastique de 10 % à 6 %.

20

Cependant, la réduction du titre viral n'est que de 2.1 log ce qui est nettement en dessous de la norme fixée par les autorités réglementaires (> 4 log) pour démontrer l'efficacité d'un procédé d'élimination de virus, en vue de réduire la charge virale potentielle d'un produit dérivé du plasma humain.

25

Conclusion

Le tableau V reprend la somme des valeurs des multimères à partir du décimère, on constate que : lorsque la somme décimères et multimères supérieurs de FvW est au plus
30 égale à 15 %, la réduction du titre viral est toujours > 4 log.

En revanche, si cette somme dépasse 16 %, la réduction du titre viral est inférieure à 4 log.

Cette corrélation entre multimères d'ordre 10 et plus de FvW et présence de virus est
 5 probablement liée à des phénomènes de passage à travers ces filtres selon les conditions
 de filtration, la porosité, la nature des matériaux filtrants, la texture du filtre, la
 géométrie des pores. Tous ces paramètres peuvent avoir une influence sur la rétention
 ou la non- rétention de virus. Les tests appliqués au filtre donnent, après utilisation, une
 indication de son efficacité, mais c'est seulement dans le cas de l'invention que le
 10 produit filtré, le Facteur VIII accompagné de multimères FVIII caractérisés selon leur
 degré de multimérisation que l'assurance d'une filtration efficace pour la rétention de
 virus peut être donnée.

L'efficacité de rétention virale > 4 log est alors reliée à la distribution de multimères de
 FvW dans le filtrat d'au plus 15 % de multimères de degré de multimérisation > 10.

15 Ces données sont résumées dans le tableau V :

	Exemple 1		Exemple 2		Exemple 3		Exemple 4	
	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après
Multimères 10-15	15 %	9 %	13 %	10 %	13 %	8 %	27 %	12 %
20 Multimères 16 et +	11 %	4 %	10 %	2 %	10 %	7 %	10 %	6 %
Total	26 %	13 %	23 %	12 %	23 %	15 %	37 %	18 %
Facteur de réduction								
viral (log)	6.0		4.3		6.1		2.1	

25 Tableau V : Corrélation entre le facteur de Réduction (Rf) viral et la composition en
 multimères FvW > 10 mères.

REVENDICATIONS

- 5 1. Composition de Facteur VIII d'origine plasmatique sécurisé viralement, caractérisée en ce qu'elle obtenue après filtration à travers un filtre nanométrique d'ouverture nominale de pores de 15 ± 2 nm à 23 ± 2 nm et en ce qu'elle comprend du Facteur von Willebrand (FvW) à un taux inférieur ou égal à 15 % de décamères et multimères supérieurs.
- 10 2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le facteur de réduction du titre d'un virus d'une taille de 27 ± 3 nm est supérieur ou égale à 4 log, de préférence 5 log, avantageusement 6 log comparé à la solution avant filtration.
- 15 3. Composition pharmaceutique selon l'une des revendications 1 et 2 se trouvant sous la forme d'une solution injectable par voie intraveineuse, intramusculaire ou sous-cutanée.
- 20 4. Procédé pour tester la sécurité virale d'une composition de Facteur VIII d'origine plasmatique obtenue par filtration nanométrique, comprenant une étape consistant en la détermination du taux résiduel de FvW de haute multimérisation.
- 25 5. Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce que la détection de moins de 15% de décamères et multimères supérieurs de FvW après filtration nanométrique indique que ladite composition est sécurisé viralement.
- 30 6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que la détection de moins de 15% de décamères et multimères supérieurs de FvW est corrélée avec un facteur de réduction du titre viral d'au moins 4 log.

7. Procédé de préparation d'une solution de facteur VIII sécurisée viralement comprenant une étape de filtration à travers des filtres nanométriques d'ouverture nominale de pores comprise entre 15 ± 2 nm et 23 ± 2 nm, une étape de dosage du Facteur von Willebrand (FvW) de décimères et multimères supérieurs.

5

8. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que l'étape de dosage consiste en une vérification que le taux de décimères et multimères supérieurs de FvW est inférieur ou égal à 15 %.

10 9. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce qu'un taux de décimères et multimères supérieurs de FvW inférieur ou égal à 15 % indique que le facteur de réduction du titre d'un virus d'une taille de 27 ± 3 nm est supérieur ou égale à 4 log, de préférence 5 log ou 6 log.

15 10. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 3 ou d'une solution de facteur VIII obtenue par le procédé selon l'une des revendications 7 à 9 pour préparer un médicament destiné au traitement des maladies liées à la coagulation sanguine, notamment l'hémophilie.

20

25

30

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07K14/755 A61K38/37 C07K1/34 G01N33/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K A61K G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WEINSTEIN R E: "IMMUNOAFFINITY PURIFICATION OF FACTOR VIII" ANNALS OF CLINICAL AND LABORATORY SCIENCE, INSTITUTE FOR CLINICAL SCIENCE, PHILADELPHIA, PA, US, vol. 19, no. 2, 1 March 1989 (1989-03-01), pages 84-91, XP002039904 ISSN: 0091-7370 page 86, left-hand column, line 23 - page 89, left-hand column, paragraph 1</p> <p>----- -/--</p>	1-3, 10



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

*** Special categories of cited documents:*****A*** document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance***E*** earlier document but published on or after the international filing date***L*** document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)***O*** document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means***P*** document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed***T*** later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention***X*** document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone***Y*** document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.***&*** document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 January 2005

Date of mailing of the international search report

25/02/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Seroz, T

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	METZNER H J ET AL: "CHARACTERIZATION OF FACTOR VIII/VON WILLEBRAND FACTOR CONCENTRATES USING A MODIFIED METHOD OF VON WILLEBRAND FACTOR MULTIMER ANALYSIS" HAEMOPHILIA, BLACKWELL SCIENCE, OXFORD, GB, vol. 4, no. SUPPL 3, 1998, pages 25-32, XP001156987 ISSN: 1351-8216 -----	
A	WO 99/31138 A (NOGRE MICHEL ;PORTE PIERRE (FR); CHTOUROU ABDESSATAR SAMI (FR); FR) 24 June 1999 (1999-06-24) -----	
A	EP 0 860 444 A (STICHTING CENTRAAL LAB) 26 August 1998 (1998-08-26) -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR2004/002737

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9931138	A	24-06-1999	FR 2772381 A1	18-06-1999
			AU 752271 B2	12-09-2002
			AU 1568199 A	05-07-1999
			CA 2314610 A1	24-06-1999
			EP 1037923 A1	27-09-2000
			WO 9931138 A1	24-06-1999
			JP 2002508396 T	19-03-2002
<hr/>				
EP 0860444	A	26-08-1998	EP 0860444 A1	26-08-1998
			AT 283277 T	15-12-2004
			DE 69827787 D1	30-12-2004
			EP 0979237 A1	16-02-2000
			WO 9837086 A1	27-08-1998

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 C07K14/755 A61K38/37 C07K1/34 G01N33/68

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C07K A61K G01N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>WEINSTEIN R E: "IMMUNOAFFINITY PURIFICATION OF FACTOR VIII" ANNALS OF CLINICAL AND LABORATORY SCIENCE, INSTITUTE FOR CLINICAL SCIENCE, PHILADELPHIA, PA, US, vol. 19, no. 2, 1 mars 1989 (1989-03-01), pages 84-91, XP002039904 ISSN: 0091-7370</p> <p>page 86, colonne de gauche, ligne 23 - page 89, colonne de gauche, alinéa 1</p> <p style="text-align: center;">----- -/--</p>	1-3, 10

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

& document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

26 janvier 2005

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

25/02/2005

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Seroz, T

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	METZNER H J ET AL: "CHARACTERIZATION OF FACTOR VIII/VON WILLEBRAND FACTOR CONCENTRATES USING A MODIFIED METHOD OF VON WILLEBRAND FACTOR MULTIMER ANALYSIS" HAEMOPHILIA, BLACKWELL SCIENCE, OXFORD, GB, vol. 4, no. SUPPL 3, 1998, pages 25-32, XP001156987 ISSN: 1351-8216 -----	
A	WO 99/31138 A (NOGRE MICHEL ;PORTE PIERRE (FR); CHTOUROU ABDESSATAR SAMI (FR); FR) 24 juin 1999 (1999-06-24) -----	
A	EP 0 860 444 A (STICHTING CENTRAAL LAB) 26 août 1998 (1998-08-26) -----	

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9931138	A	24-06-1999	FR 2772381 A1	18-06-1999
			AU 752271 B2	12-09-2002
			AU 1568199 A	05-07-1999
			CA 2314610 A1	24-06-1999
			EP 1037923 A1	27-09-2000
			WO 9931138 A1	24-06-1999
			JP 2002508396 T	19-03-2002
EP 0860444	A	26-08-1998	EP 0860444 A1	26-08-1998
			AT 283277 T	15-12-2004
			DE 69827787 D1	30-12-2004
			EP 0979237 A1	16-02-2000
			WO 9837086 A1	27-08-1998